

(様式 12)

氏 名 (本籍) 品川 令 (東京都)  
学 位 の 種 類 博士 (歯学)  
学 位 記 番 号 甲 第 322 号  
学 位 授 与 日 2016 年 3 月 14 日  
学位授与の要件 博士の学位論文提出者 (学位規程第 11 条第 1 項該当者)  
学 位 論 文 題 目 酵素法と outgrowth 法で得られたヒト歯小囊及び歯根膜由来幹細胞の特性に  
関する *in vitro* と *in vivo* の解析

論文審査委員 (主査) 教授 須田 直人  
(副査) 教授 天野 修  
(副査) 教授 友村 明人  
(副査) 教授 横瀬 敏志

### 論文内容の要旨

矯正歯科治療に伴う歯根の外部吸収は、臨床上回避すべき重要な問題である。外部吸収した歯根の再生にあたり、生体内でのセメント質再生が効果的と考えられる。再生医療において、間葉系幹細胞 (MSCs) は硬組織の再生にしばしば利用されている。間葉系幹細胞は、歯小囊 (DF)、歯根膜 (PDL) などの歯の周囲組織からも分離可能であることが知られている。本研究では、セメント質形成に最も有用であるヒト抜去歯由来細胞の種類を明らかにすることを目的とした。我々は 2 種類の異なる細胞分離法、すなわち酵素法 (EZ) と outgrowth 法 (OG) を用いて、DF 及び PDL から抜去歯由来幹細胞 (DSCs) を分離した。得られた 4 つの異なる細胞種を各々 DF-EZ 群、DF-OG 群、PDL-EZ 群、PDL-OG 群とした。各群について、*in vitro* では増殖能、表面抗原、遺伝子発現、多分化能を検討した。*In vivo* での硬組織形成能評価では、各細胞をハイドロキシアパタイトと混在させたものを SCID マウスへ移植し、組織形成を組織学的に観察した。本研究で得られた計 4 種の細胞群は、*in vitro* において間葉系幹細胞マーカーに陽性であり、胚性幹 (ES) 細胞/人工多能性幹 (iPS) 細胞関連遺伝子を発現し、多分化能を有していた。セメント質関連遺伝子は、PDL-OG 群が最も高発現した。*In vivo* の評価では、細胞を移植したすべての群で硬組織様組織の形成がみられた。DF-EZ 群、PDL-EZ 群、PDL-OG 群の移植片は免疫染色においてセメント質マーカーに陽性を示し、移植したヒトの DSCs がセメント質様組織を形成したと考えられた。さらに、PDL-OG 群の移植片では無細胞セメント質様の組織に加えて有細胞セメント質様の組織形成がみられた。これらの知見により、PDL-OG 群はセメント質再生にあたり特に有用な細胞群であると期待された。

### 論文審査および試験結果の要旨

本研究の評価すべき点は、抜去歯由来幹細胞として採取組織と分離法が異なる計 4 通りの方法を検討し、どのような間葉系幹細胞がセメント質形成のバイオリソースとして適しているか、*in vitro* の幹細胞特性と *in vivo* での硬組織形成能の両面から比較解析した点にある。本研究で得られた採取組織と分離法が異なる 4 つの細胞集団は、いずれも間葉系幹細胞マーカー陽性であり、幹細胞関連遺伝子を発現し、また、脂肪、軟骨、骨への多分化能を示した。*in vivo* の評価では、DF-EZ、PDL-EZ、PDL-OG を移植した群で無細胞セメント質様硬組織の形成が観察され、PDL-OG を移植した群では、さらに有細胞セメント質様硬組織が形成され、セメント質や歯根の再生に有用なバイオリソースであることが示唆された。本研究で得られた知見により、将来のセメント質、歯根の再生への大きな発展が期待される。

明海大学大学院歯学研究科 品川令に対する最終試験は、2016 年 1 月 12 日、主査 須田直人教授、副査 天野修教授、友村明人教授、横瀬敏志教授により、主論文の内容および専攻学術に関し、口頭試問を持って実施した。その結果、合格と認めた。また、品川令の語学試験は、大学院入学試験時の外国語試験および一年時に実施した英語コアプログラムの試験結果をもって合格とした。よって、申請者 品川令の本論文は、博士 (歯学) の学位論文に値するものであり、品川令は博士 (歯学) の学位を授与されるに値するものと判断した。